

Untersuchungen zur
spreadinghemmenden Wirkung des
Heparin und der Heparinoide bei
parenteraler Applikation

von

FRANZ TERHARDT

1961

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Untersuchungen zur spreadinghemmenden Wirkung des Heparin
und der Heparinoide bei parenteraler Applikation



Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Franz Terhardt
aus
Gladbeck /Westfalen
1961



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. Dr. H. Eyer

Tag der mündlichen Prüfung: 27.6.61

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	4
Eigene Untersuchungen	5
I. Methodik	5
II. Versuchsreihen	6
III. Ergebnisse	7
IV. Statistische Auswertung	8
V. Diskussion	14
Abbildungen und Tabellen	17
Zusammenfassung	48
Literaturverzeichnis	49

E i n l e i t u n g

Aufgabe der hier beschriebenen Untersuchungen war es, die hyaluronidasehemmende Wirkung von Heparin im Vergleich zu verschiedenen Heparinoiden zu prüfen und dabei die geringste Dosis auszutesten, die noch eine deutliche Hemmung der Hyaluronidase bewirkt.

Zur Anwendung kam dabei die Methode, mit der von Mathies und Mitarbeitern bereits Salicylate¹, Chloräthylbenzmethoxazon², Phenylbutazon³, Glucocorticoide⁴, Nicopyron⁵, Oestronsulfat⁶ u. a. untersucht wurden. Es hatte sich hierbei gezeigt, daß die angewandte Spreading-Methode bei der statistischen Auswertung brauchbare Ergebnisse liefert. Unter Spreading ist die Ausbreitung eines intracutan injizierten Farbstoffes zu verstehen, die durch Zusatz von Hyaluronidase verstärkt wird.

Es war nun zu untersuchen, inwieweit nach intravenöser Applikation der zu prüfenden Substanzen eine Hyaluronidasehemmung, d.h. eine Verkleinerung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel (FH) im Vergleich zur reinen Farbstoff-Quaddel (F) eintritt und inwieweit diese Verkleinerung dosisabhängig ist.

Beim biologischen Versuch ist es schwer zu entscheiden, ob die dabei in wechselndem Maße auftretenden Verkleinerungen auch der reinen Farbstoff-Quaddeln ohne Hyaluronidase-Zusatz durch einen hyaluronidase-unspezifischen Effekt bewirkt wurden, oder ob dabei die vorhandene Gewebshyaluronidase durch die applizierten Substanzen gehemmt wurde.

Im Verlaufe früherer Untersuchungen zeigte es sich, daß die Dosen von Heparin, die imstande sind, das Hyaluronidase-Spreading nachweisbar zu beeinflussen, wesentlich unter denjenigen liegen, die bei den Untersuchungen von Hardegge und Maass⁷ noch einen Einfluß auf die Blutgerinnung ausübten.

Aufgaben der vorliegenden Arbeit waren im einzelnen:

1. Austestung der geringsten hyaluronidasehemmenden Dosis von Heparin.
 2. Vergleich verschiedener Heparinoide mit Heparin, um festzustellen, ob die Grenzdosen einander gleichen.
 3. Ermittlung von Vergleichswerten, um den Prozentsatz des bei anderen Untersuchungen nach oraler oder percutaner Applikation resorbierten Heparins bzw. von Heparinoiden festzustellen.
- Folgende Präparate wurden bei den Untersuchungen verwandt:

1. Liquemin (Wässrige Heparinlösung mit einem Wirkungswert von 5000 IE pro ccm.)
2. Thrombocid (Polysaccharidschwefelsäureester sulfurierter Pentosen und Hexosen)
3. Eleparon (Aus tierischen Organen hergestellter Mucopolysaccharid-polyschwefelsäureester, eingestellt auf einen Gehalt von 5000 E pro ccm nach der Methode von S t u d e r und W i n t e r - s t e i n .)

Eigene Untersuchungen

I. Methodik

Als Versuchstiere wurden männliche weiße Ratten im Gewicht von 160 bis 205 g verwandt. Die Versuche wurden in Evipan-Narkose durchgeführt, wobei pro 100 g Tier 0,3 ccm einer 10%igen Evipan-Lösung subcutan injiziert wurden.

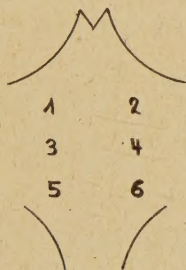
Auf die mit "Pilca" enthaarte Bauchhaut der Versuchstiere wurden jeweils 6 Quaddeln mit 0,1 ccm Lösung intracutan gesetzt. Dabei enthielt die Farbstoff-Quaddel (F) 0,1 ccm einer 0,06%igen Evans-blue-Lösung, die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel (FH) enthielt in der gleichen Menge der gleichen Farbstofflösung 7,5 E einer hochgereinigten Testes-Hyaluronidase.

Für jeden der beiden Quaddel-Typen wurde am gleichen Tier je eine Kontroll-Quaddel (F_v bzw. FH_v) vor Belastung der Tiere mit der Prüfsubstanz und je zwei Versuchsquaddeln zu festgesetzten Zeiten (F_t bzw. FH_t) nach Belastung der Tiere mit der Prüfsubstanz gesetzt. Die Prüfsubstanzen wurden intravenös appliziert, wobei die vorgegebene Menge/100 g Tier jeweils in 0,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung enthalten war. Die Gewichtsangaben im Text beziehen sich stets auf mg der Präparate, die

pro 100 g Tier injiziert wurden. 0,01 mg Liquemin und Eleparon entsprechen 1 internationalen Einheit. Zur Bestimmung der Hyaluronidase-Aktivität bzw. zur Feststellung der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Spreadings wurde die Größe der Quaddeln jeweils 10 Minuten nach dem Setzen festgehalten und später planimetrisch bestimmt und in mm^2 angegeben.

Die 6 Quaddeln werden im weiteren als die 6 "Verfahren" des Versuchs bezeichnet, die Kontrollquaddeln bezeichnen wir als "Kontrolle" (F_v bzw. FH_v), die Quaddeln nach Belastung mit der Prüfsubstanz als "Versuchszeiten" (F_t bzw. FH_t).

Die Bauchhaut der Tiere wurde für die Zwecke der Versuchsplanung in ein Versuchsfeld mit 6 verschiedenen Lokalisationsmöglichkeiten aufgeteilt:



Um etwaige Einflüsse der jeweiligen Lokalisation auf die Ergebnisse der Versuche auszuschalten, wurden die Versuche als "lateinische Quadrate" geplant. Für jede Versuchsreihe wurden entsprechend den 6 möglichen Lokalisationen 6 Versuchstiere herangezogen. Jedes der 6 Verfahren wurde dabei an jeder der 6 Lokalisationen in zufälliger Anordnung einmal appliziert.

II. Versuchsreihen

Versuchsreihe 1: Applikation von 0,02 mg Liquemin/100 g Tier.

- a) Versuchszeiten: 20' und 40'.
- b) Versuchszeiten: 30' und 60'.

Versuchsreihe 2: Applikation von 0,01 mg Liquemin/100 g Tier.

- a) Versuchszeiten: 20' und 40'.
- b) Versuchszeiten: 30' und 60'.

Versuchsreihe 3: Applikation von 0,02 mg Thrombocid/100 g Tier.

a) Versuchszeiten: 20' und 40'.

b) Versuchszeiten: 30' und 60'.

Versuchsreihe 4: Applikation von 0,01 mg Thrombocid/100 g Tier.

a) Versuchszeiten: 20' und 40'.

b) Versuchszeiten: 30' und 60'.

Versuchsreihe 5: Applikation von 0,02 mg Eleparon/100 g Tier.

a) Versuchszeiten: 10' und 30'.

b) Versuchszeiten: 20' und 40'.

c) Versuchszeiten: 60' und 80'.

Versuchsreihe 6: Applikation von 0,01 mg Eleparon/100 g Tier.

a) Versuchszeiten: 10' und 60'.

b) Versuchszeiten: 20' und 80'.

c) Versuchszeiten: 30' und 40'.

Die Lokalisationen der "Verfahren" innerhalb der einzelnen Versuchsreihen wurden nach weiter oben beschriebenem Verfahren ermittelt und sind in den Tabellen 1-14 angegeben.

III. Ergebnisse

Die in den einzelnen Versuchsreihen ermittelten Einzelwerte sind in den Tabellen 15-28 aufgeführt. Die zugehörigen Mittelwerte der Versuchstiere innerhalb der Versuchsreihen finden sich in den Tabellen 29-42 unter $\bar{x}(V)$ aufgeführt, die Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$ unter $\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$.

Liquemin (Versuchsreihen 1 und 2): Bei der Untersuchung ergab sich zu sämtlichen Versuchszeiten eine Hemmung der FH-Quaddel, die bei der Dosis 0,02 mg (Versuchsreihe 1) ein Maximum von 52 mm^2 (Mittelwertsdifferenz) 40' p.i. erreichte, (Abb. 1 und Tabellen 15/16 und 29/30), während bei 0,01 mg (Versuchsreihe 2) das Maximum der Hemmung nur 22 mm^2 betrug und 30' p.i. erreicht wurde (Abb. 1 und Tabellen 17/18 und 31/32). Auch die Farbstoff-Quaddel ohne Hyaluronidasezusatz (F) zeigte eine gleichläufige Hemmung ihrer Ausbreitung, die statistisch gesichert werden konnte. Bei der Applikation von 0,02 mg übertrifft die Hemmung der FH-Quaddel wesentlich den hemmenden Effekt auf die F-Quaddel,

während bei Injektion von 0,01 mg deutliche Unterschiede nicht mehr bestehen.

Thrombocid (Versuchsreihen 3 und 4): Diese Substanz führte in einer Dosis von 0,02 mg (Versuchsreihe 3) zu allen Zeiten des Versuches zu einer Hemmung der FH-Quaddel von maximal 62 mm^2 (Mittelwertsdifferenz) bei 30' p.i. (Abb. 2 und Tab. 19/20 und 33/34), während mit 0,01 mg des Präparates (Versuchsreihe 4) nur ein Maximum von 35 mm^2 zum gleichen Zeitpunkt des Versuches erzielt wurde (Abb. 2 und Tab. 21/22 und 35/36). Die Hemmung der reinen F-Quaddel ist bei Applikation von 0,02 mg ebenfalls etwas stärker als bei der Gabe von 0,01 mg. Auch bei 0,01 mg zeigt jedoch die FH-Quaddel noch eine deutlich stärkere Hemmung gegenüber der der F-Quaddel.

Eleparon (Versuchsreihen 5 und 6): Hier war bei Gabe von 0,02 mg (Versuchsreihe 5) zu allen Zeiten des Versuches eine Hemmung der FH-Quaddel festzustellen - maximal 72 mm^2 (Mittelwertsdifferenz) 40' p.i. (Abb. 3 und Tab. 23-25 und 37-39), während bei 0,01 mg (Versuchsreihe 6) eine Hemmung der FH-Quaddel zu keiner der Versuchszeiten mehr zu sichern war (Abb. 3 und Tab. 26-28 und 40-42). Die F-Quaddel (ohne Hyaluronidase-Beigabe) wurde bei einer Dosierung von 0,02 mg ebenfalls in gewissem Ausmaß hemmend beeinflusst, während sie bei einer Dosierung von 0,01 mg wie auch die FH-Quaddel keine Hemmung mehr aufwies. Auffallend erscheint 10' p.i. von 0,01 mg Eleparon eine geringe Förderung der Farbstoff-Ausbreitung der beiden Quaddeltypen, die jedoch statistisch nicht zu sichern war. Ein Vergleich mit den Verhältnissen bei Liquemin und Thrombocid kann nicht gezogen werden, da 10' nach Injektion dieser Substanzen keine Bestimmung durchgeführt wurde.

IV. Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistisches Modell und Methodik

Primäre Aufgabe der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse ist die Bestimmung der experimentellen Variabilität. Hierzu ist es notwendig, die Gesamt-Variabilität der Versuchsergebnisse in Komponenten zu zerlegen, die den einzelnen systematischen Faktoren entsprechen, welche das Versuchsergebnis beeinflussen. Derjenige Anteil der Gesamt-Variabilität, der sich nicht als Folge solcher

systematischer Faktoren erklären läßt, ist dann als Schätzung der experimentellen Variabilität aufzufassen.

Bei der hier vorliegenden Versuchsanordnung waren folgende systematische Faktoren zu berücksichtigen:

- Individuelles Reaktionsniveau der Versuchstiere;
- Wirkung der 6 Verfahren;
- Systematischer Einfluß der Lokalisation.

Zur Bestimmung der Variabilitäten, die zu diesen systematischen Faktoren gehören, bedienten wir uns einer mehrfachen Varianz-Analyse. Diesen Varianz-Analysen liegt ein lineares statistisches Modell zugrunde, bei dem angenommen wird, daß sich die Wirkung der einzelnen Faktoren in additiver Form unabhängig überlagert. Der Einfluß, den die einzelnen systematischen Faktoren auf die Gesamt-Variabilität haben, ergibt sich in den Varianz-Analysen in Form von "Varianz-Komponenten", die den einzelnen systematischen Faktoren entsprechen. Die Schätzung der experimentellen Variabilität liefern die Varianz-Analysen in Form der "Rest-Varianz".

Ein systematischer Faktor hat nur dann einen statistisch gesicherten Einfluß auf die Versuchsergebnisse, wenn die zugehörige Varianz-Komponente statistisch größer ist als die experimentelle Variabilität (Rest-Varianz). Ob dieses der Fall ist, wird in den Varianz-Analysen durch einen Vergleich dieser Varianz-Komponenten mit Hilfe des F-Tests geprüft.

Entsprechend der Fragestellung, die den Versuchen zugrunde lag, interessierte hier primär nur der Einfluß, den die 6 Verfahren auf die Diffusionsgeschwindigkeit der Quaddeln ausüben. Hierbei war zunächst zwischen den beiden Quaddel-Typen zu unterscheiden; außerdem war für jeden Quaddel-Typus einzeln zu prüfen, ob statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Versuchszeiten einerseits und zwischen den Versuchszeiten selbst andererseits bestehen. Diesen Fragestellungen entspricht in den Varianz-Analysen je eine "orthogonale Komponente" der Varianz-Komponente, die zu dem systematischen Faktor "Verfahren" gehört. Ein statistisch gesicherter Einfluß der Prüfsubstanz auf die Diffusionsgeschwindigkeit eines Quaddel-Typus liegt nur dann

vor, wenn mindestens eine der 2 orthogonalen Komponenten, die zu diesem Quaddel-Typus gehören, statistisch gesichert größer ist als die Rest-Varianz. Die Prüfung dieser Frage wurde ebenfalls mit Hilfe des F-Tests durchgeführt.

Das lineare statistische Modell und somit die Varianz-Analyse läßt keinen Schluß auf die absolute Wirksamkeit eines "Verfahrens" zu; es ist vielmehr nur möglich, den Unterschied in der Wirksamkeit je zweier "Verfahren" statistisch zu prüfen. Die Größe dieses Unterschiedes wird dabei auf folgende Weise geschätzt: Es sei hierzu $\bar{x}(V)$ das arithmetische Mittel aller Meßwerte, die für das Verfahren V beobachtet wurden. Die Differenz zwischen den Mittelwerten, die zu 2 verschiedenen Verfahren gehören, ist dann eine optimale Schätzung für den Unterschied in der "Wirkung" der Verfahren; gemessen wird hierbei die Differenz in der Diffusionsgeschwindigkeit, die zu diesen beiden Verfahren gehört. Bei der Fragestellung, die den Versuchen zugrundelag, interessierte hier primär der Unterschied

$$\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$$

zwischen den Versuchszeiten t und der Kontrolle K. Im Prinzip wird in der Varianz-Analyse nichts anderes geprüft als die Frage, ob diese Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}(t)$ statistisch gesichert von 0 verschieden sind.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in den Tabellen 29-42 dargestellt. Im oberen Teil dieser Tabellen ist für jede Versuchsreihe das Ergebnis der zugehörigen Varianz-Analyse angegeben; im unteren Teil finden sich für jedes Verfahren die Mittelwerte $\bar{x}(V)$ und außerdem die Mittelwertsdifferenzen

$\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$. Soweit sich aus den Varianz-Analysen ergab, daß eine Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ statistisch gesichert von 0 verschieden ist, wurde in der Spalte "Sicherung" angegeben, mit welcher Irrtumswahrscheinlichkeit diese Aussage belastet ist. In der mit "Hemmung" überschriebenen Spalte ist schließlich die in üblicher Weise errechnete prozentuale Hyaluronidasehemmung aufgeführt.

In den Schemata der Varianz-Analysen bedeutet:

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
F_{emp.}: den Varianz-Quotienten zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der experimentellen Variabilität (Rest-Varianz);
p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten F_{emp.} in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Ein statistisch gesicherter Einfluß eines systematischen Faktors bzw. ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den verschiedenen Verfahren liegt nur dann vor, wenn der zugehörige Varianz-Quotient F_{emp.} eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die nicht größer ist als 5%. Von einer ausreichenden statistischen Sicherung kann allerdings erst gesprochen werden, wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten sogar kleiner als 1% ist. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit für die Aussage, eine Mittelwertsdifferenz $\sigma \bar{x}(t)$ sei statistisch gesichert von 0 verschieden, wurde daher nur angegeben, wenn diese nicht größer ist als 5%.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Versuchsreihe 1 (Abb. 1 und Tab. 15/16 und 29/30): Bei dieser Versuchsreihe liegt eine statistisch hoch gesicherte Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit beider Quaddel-Typen zu sämtlichen Versuchszeiten vor. Das Maximum dieser Hemmung tritt zum Zeitpunkt 40' p.i. ein; zum späteren Zeitpunkt 60' p.i. werden die Ausbreitungsgeschwindigkeiten größer. In dieser Hinsicht unterscheidet sich die vorliegende Versuchsreihe von der Versuchsreihe 2, bei der das Maximum zum Zeitpunkt 30' p.i. angenommen wurde, während zum Zeitpunkt 40' p.i. wieder eine wesentlich größere Diffusionsgeschwindigkeit beobachtet werden konnte. Bemerkenswert erscheint, daß die Hemmung der Diffusionsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel in dieser Versuchsreihe praktisch derjenigen der Versuchsreihe 2 entspricht, während für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel die Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$ hier wesentlich

größer sind. Daraus darf geschlossen werden, daß die höhere Dosierung sich im wesentlichen nur auf das Verhalten der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel ausgewirkt hat.

Versuchsreihe 2 (Abb. 1 und Tab. 17/18 und 31/32): Hier liegt sowohl bei der reinen Farbstoff-Quaddel als auch bei der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine statistisch hoch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit vor. Aus den Vorzeichen der Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$ ergibt sich, daß es sich hierbei um eine Verminderung in der Ausbreitungsgeschwindigkeit der beiden Quaddel-Typen nach Applikation der Prüfsubstanzen handelt. Ihren maximalen Wert erreicht diese Hemmung zu dem Zeitpunkt 30' p.i.; die Veränderung gegenüber diesem Wert zum Zeitpunkt 60' p.i. ist jedoch unerheblich. Bemerkenswert ist, daß die Hemmung der reinen Farbstoff-Quaddel, gemessen an der Größe der Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$, nur geringfügig kleiner ist als diejenige der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel.

Versuchsreihe 3 (Abb. 2 und Tab. 19/20 und 33/34): Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe entsprechen praktisch denjenigen der Versuchsreihe 4. Allerdings sind, als Folge der höheren Dosierung, die Effekte hier deutlicher; dieses drückt sich in der Größe der Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$ aus. Bemerkenswert ist, daß sowohl in dieser Versuchsreihe als auch in der Versuchsreihe 4 die Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel annähernd den halben Wert derjenigen der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel erreicht. Es läßt sich daher nicht entscheiden, ob die größere Hemmung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel auf eine spezifische Hyaluronidasehemmung zurückzuführen ist oder lediglich einen Effekt der größeren Ausgangslage dieses Quaddel-Typus darstellt.

Versuchsreihe 4 (Abb. 2 und Tab. 21/22 und 35/36): Bei dieser Versuchsreihe liegt eine statistisch gesicherte Veränderung in der Ausbreitungsgeschwindigkeit sowohl der reinen Farbstoff-Quaddel als auch der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor. Es handelt sich hierbei um eine Hemmung der Diffusionsgeschwindigkeit, die sich aus dem Vorzeichen und der Größe der Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$ ergibt. Ihren maximalen Wert erreicht diese

Hemmung zu dem Zeitpunkt 30' p.i.; zu den späteren Zeitpunkten sind die Ausbreitungsgeschwindigkeiten wieder größer. Allerdings kann dieser Unterschied statistisch nicht gesichert werden.

Versuchsreihe 5 (Abb. 3 und Tab. 23-25 und 37-39): Hier konnten zu allen Zeitpunkten des Versuches statistisch gesicherte Veränderungen in der Diffusionsgeschwindigkeit der beiden Quaddel-Typen gegenüber ihren jeweiligen Kontrollen beobachtet werden. Wie aus dem Vorzeichen der Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$ hervorgeht, handelt es sich hierbei jeweils um eine Verringerung der Diffusionsgeschwindigkeit gegenüber der Kontrolle. Ihren maximalen Wert erreicht diese Veränderung für die beiden Quaddel-Typen zum Zeitpunkt 40' p.i. Die Veränderungen in den Diffusionsgeschwindigkeiten erreichen, gemessen an den Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$, für die reine Farbstoff-Quaddel nicht ganz die Hälfte des Wertes der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel. Insgesamt verhalten sich die beiden Quaddel-Typen äußerst gleichförmig; es liegt daher der Gedanke nahe, daß beide Quaddel-Typen dem gleichen Prozeß unterliegen, der sich lediglich in unterschiedlicher Stärke äußert. Es läßt sich somit schwer entscheiden, inwieweit die unterschiedliche Größe der Mittelwertsdifferenzen für die beiden Quaddel-Typen die Folge einer spezifischen Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität ist oder inwieweit dieser Unterschied lediglich einen Effekt der verschiedenen Ausgangsgrößen der beiden Quaddel-Typen darstellt.

Versuchsreihe 6 (Abb. 3 und Tab. 26-28 und 40-42): Bei der hier angewandten Dosierung der Prüfsubstanz konnte zu keiner der Versuchszeiten eine statistisch gesicherte Veränderung in der Diffusions-Geschwindigkeit der beiden Quaddel-Typen gegenüber ihren jeweiligen Kontrollen festgestellt werden. Die Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$ deuten allerdings an, daß zu dem Zeitpunkt 10' p.i. eine Vergrößerung in der Diffusionsgeschwindigkeit sowohl der reinen Farbstoff-Quaddel als auch der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eingetreten ist. Eine statistische Sicherung dieser Veränderung konnte jedoch nicht erzielt werden. Als Ursache hierfür ist die vergleichsweise große experimentelle Variabilität der hier besprochenen Versuchsreihen anzusehen. Diese Größe der experimentellen Variabilität ist jedoch nicht verwunderlich; er-

fahrungsgemäß tritt immer dann eine große experimentelle Variabilität auf, wenn die Dosierung einer Prüfsubstanz nahe an der unteren Schwelle ihrer Wirksamkeit liegt. In diesen Fällen macht sich die unterschiedliche Reaktionsweise der Versuchstiere besonders stark bemerkbar.

4. Prozentuale Berechnung der Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der FH-Quaddeln

Der Berechnung zugrunde liegt die Annahme, daß die Ausbreitungsgeschwindigkeit der F-Quaddel, die vor Applikation der Prüfsubstanzen als Kontrolle gesetzt wird (F_v), wegen des fehlenden Hyaluronidase-Zusatzes einer 100%igen Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität entspricht, während die Ausbreitungsgeschwindigkeit der FH-Kontrollquaddel (FH_v) eine 0%ige Hemmung anzeigt.

Ausgehend von diesen Voraussetzungen wurden die in den Tabellen 29-42 in den Spalten "Hemmung" angegebenen Werte nach folgender Formel errechnet:

$$\frac{FH_v - FH_t \cdot 100}{FH_v - F_v} = \text{Hemmung in \%}$$

V. Diskussion

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß bei allen drei Prüfsubstanzen 0,02 mg eine deutliche Hemmung des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings ergibt, die bei Eleparon am stärksten zu sein scheint, obwohl die Differenz von 20 mm² gegenüber Liquemin nicht sicher signifikant sein dürfte. Bei Gabe von 0,01 mg der drei Prüfsubstanzen ist nur beim Thrombocid eine deutliche Hemmung der FH-Quaddel gegenüber der reinen F-Quaddel sichtbar. Die Hemmung der reinen F-Quaddel konnte bei Gabe von 0,02 mg bei allen drei Prüfsubstanzen, bei 0,01 mg nur bei Liquemin und Thrombocid gesichert werden.

Im Vergleich mit bereits vorliegenden Untersuchungen, die mit Liquemin durchgeführt wurden (Maxe in⁸, Meder⁹), ist bei Gaben von 0,015 - 0,02 mg eine maximale Hemmung erreicht. Nach Untersuchungen von Ziwar i¹⁰, die dieser

mit 15 E (=0,15 mg) Liquemin durchführte, ergibt eine weitere Steigerung der Dosis keine größeren Hemmwerte der Hyaluronidase-Aktivität. Dagegen ist in unseren Untersuchungen bei Applikation von 0,01 mg eine deutliche Abnahme der Hemmung festzustellen, die sich der Hemmung der reinen F-Quaddel nähert. Wenn wir einen hyaluronidase-unspezifischen Hemmeffekt auf die Permeabilität der reinen F-Quaddel annehmen wollen, so wäre mit 0,015 - 0,02 mg die niedrigste Dosis erreicht, die die Hyaluronidase-Wirkung des Spreadings hemmend beeinflusst.

Beim Thrombocid scheint diese Minimaldosis etwas, wenn auch unerheblich niedriger zu liegen, während sie beim Eleparon möglicherweise einen etwas höheren Wert ergibt, wobei vielleicht die hemmende Wirkung der Minimaldosis etwas stärker zu sein scheint. Auffallend ist beim Eleparon, daß bei einer Dosierung von 0,01 mg keine Hemmung des Spreadings mehr feststellbar ist und zwar sowohl bei der FH- als auch bei der F-Quaddel.

Die Tatsache, daß bei nachlassender Hemmung des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings bei entsprechend niedrigen Dosen der Prüfsubstanzen die Hemmung der FH-Quaddel sich derjenigen der reinen F-Quaddel nähert, und die Beobachtung, daß (z.B. beim Eleparon) schließlich ein Punkt erreicht wird, zu dem weder die FH- noch die reine F-Quaddel eine zu sichernde Hemmung aufweist, läßt die Beeinflussung der Gewebshyaluronidase der Bauchhaut im Falle der reinen F-Quaddel diskutieren.

Es erscheint möglich, daß bei einer Dosis, die unter der wirk-samen Minimaldosis liegt und die beim Heparin und den geprüf-ten Heparinoiden geringe Unterschiede aufweist, schließlich der Punkt erreicht wird, an dem die Hyaluronidase-Menge, die in der FH-Quaddel dem Farbstoff beigegeben ist, in ihrer Wirkung nicht mehr vollständig gehemmt wird, obwohl die gewebeeigene Hyaluronidase im Falle der F-Quaddel noch eine nahezu volle Hemmung aufweist.

Im Falle des Eleparon ist mit der Dosierung von 0,01 mg der Punkt erreicht, an dem auch die körpereigene Gewebshyaluroni-dase nicht mehr hemmend beeinflusst wird.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die notwendige Minimaldosis des Heparins und der beiden ebenfalls geprüften Heparinoide, die zur Erzielung einer hemmenden Wirkung auf das Hyaluronidase-Spreading erforderlich ist, um 0,015 - 0,02 mg bzw. 1,5 - 2 E liegt.

Damit sind Vergleichsmöglichkeiten für den Anteil oral oder percutan resorbierter Heparin- bzw. Heparinoid-Mengen gegeben. G e l l i u s ¹¹ stellte in Rattenversuchen fest, daß die geringste, oral deutlich wirksame Dosis von Liquemin bei 10 mg/100 g Tier, die des Thrombocids bereits bei 1 mg/100 g Tier liegt. Diese Werte wurden bei Prüfung von 0,1 mg, 1 mg bzw. 10 mg ermittelt. Im Vergleich zu unseren Versuchsergebnissen kann damit ausgesagt werden, daß die orale Resorptionsquote des Liquemins etwa 1/500 und die des Thrombocids und Eleparons etwa 1/50 beträgt.

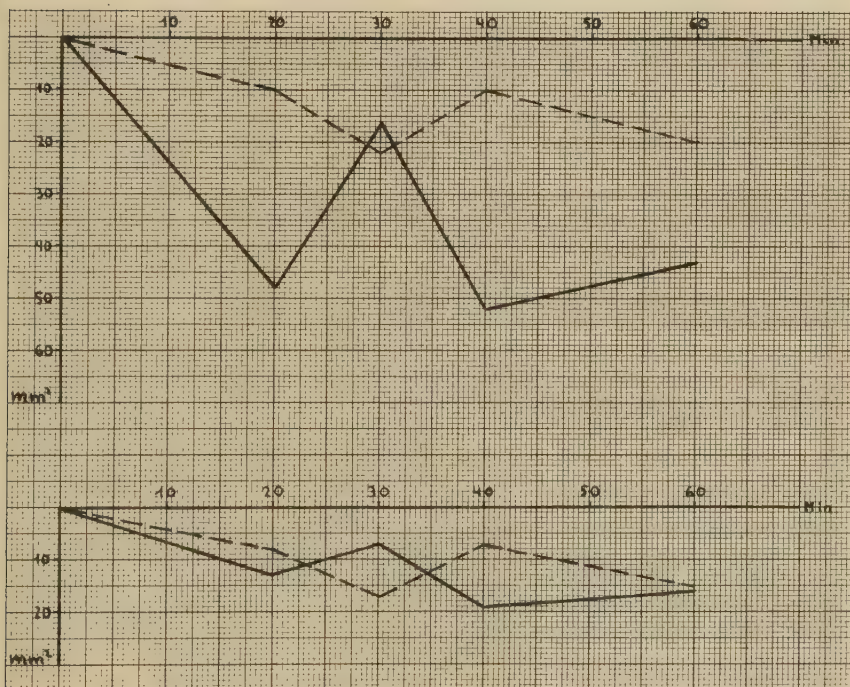
Interessant sind auch Vergleiche mit von B u r k ¹² durchgeführten Untersuchungen über die Hautresorption einer Thrombocid- und einer Eleparon-Salbe. Eine signifikante Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings ergab sich in diesen Versuchen bei cutaner Applikation erbsengroßer Stücke dieser Salben, die im Falle des Liquemins 2,6 mg und im Falle des Thrombocids 0,26 mg wirksamer Substanz enthielten. Bei cutaner Applikation dieser Wirkstoffmengen dürften damit mindestens 0,015 - 0,02 mg Liquemin bzw. Thrombocid resorbiert worden sein.

Abbildungen und Tabellen

Abbildungen

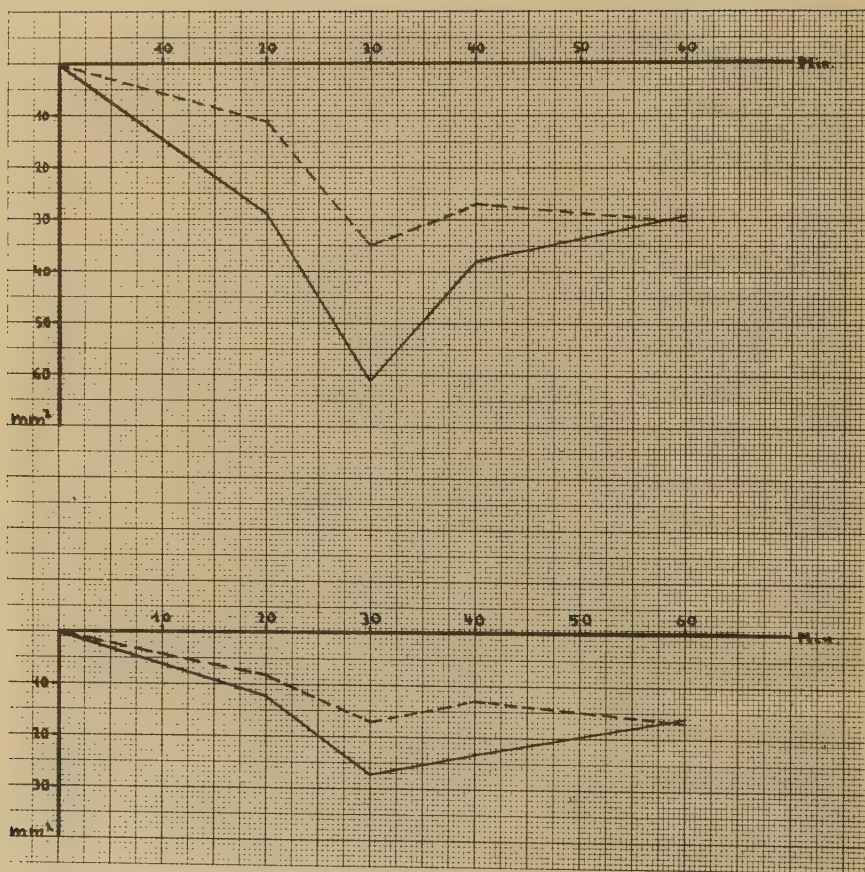
Vorbemerkung: In den Abbildungen sind die Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$ der einzelnen "Verfahren" aufgetragen, die in den Tabellen 29 - 42 unter $\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$ aufgeführt sind.

Im oberen Teil der Abbildungen sind die Mittelwertsdifferenzen der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln, im unteren Teil die der reinen Farbstoff-Quaddeln eingezeichnet.



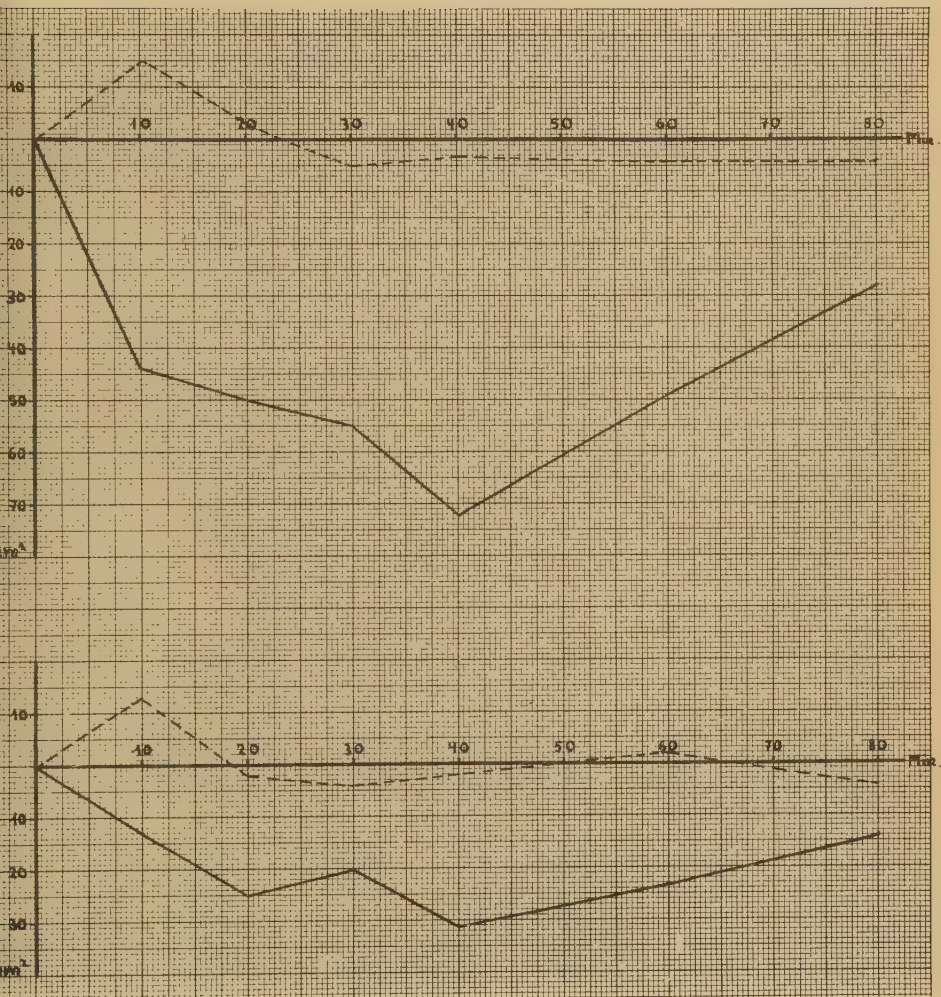
A b b i l d u n g 1

- Versuchsreihe 1. Liquemin 0,02 mg (Tab. 29/30)
- Versuchsreihe 2. Liquemin 0,01 mg (Tab. 31/32)



A b b i l d u n g 2

— Versuchsreihe 3. Thrombocid 0,02 mg (Tab. 33/34)
 - - - Versuchsreihe 4. Thrombocid 0,01 mg (Tab. 35/36)



A b b i l d u n g 3

— Versuchsreihe 5. Eleparon 0,02 mg (Tab. 37-39)
 - - - Versuchsreihe 6. Eleparon 0,01 mg (Tab. 40-42)

Tabellen 1-14: Lokalisation der "Verfahren" (Quaddeln) innerhalb der einzelnen Versuchsreihen.

Die Kontrollquaddeln (vor Applikation der Prüfsubstanz) sind mit einem "v" bezeichnet, bei den Versuchsquaddeln (nach Applikation der Prüfsubstanz) ist angegeben, zu welcher Zeit (in Minuten) sie p.i. gesetzt wurden.

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6
1	F v	F 20	FH 20	FH v	FH 40	F 40
2	F 40	FH 40	F v	F 20	FH 20	FH v
3	FH v	FH 20	F 40	FH 40	F v	F 20
4	F 20	F v	FH v	FH 20	F 40	FH 40
5	FH 40	F 40	F 20	F v	FH v	FH 20
6	FH 20	FH v	FH 40	F 40	F 20	F v

Tabelle 1
(Versuchsreihe 1a)

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6
1	FH 30	F v	FH 60	F 30	F 60	FH v
2	F 60	FH v	F 30	FH 30	F v	FH 60
3	F v	FH 60	FH 30	F 60	FH v	F 30
4	FH v	F 30	F 60	F v	FH 60	FH 30
5	FH 60	FH 30	F v	FH v	F 30	F 60
6	F 30	F 60	FH v	FH 60	FH 30	F v

Tabelle 2
(Versuchsreihe 1b)

Tier L o k a l i s a t i o n
Nr. 1 2 3 4 5 6

1	FH 20	F 40	FH 40	FH v	F v	F 20
2	F 40	F 20	FH 20	FH 40	FH v	F v
3	F 20	F v	F 40	FH 20	FH 40	FH v
4	F v	FH v	F 20	F 40	FH 20	FH 40
5	FH v	FH 40	F v	F 20	F 40	FH 20
6	FH 40	FH 20	FH v	F v	F 20	F 40

T a b e l l e 3
(Versuchsreihe 2a)

Tier L o k a l i s a t i o n
Nr. 1 2 3 4 5 6

1	FH 60	F 60	F 30	F v	FH 30	FH v
2	F 30	FH 60	FH 30	F 60	FH v	F v
3	FH 30	F 30	FH v	FH 60	F v	F 60
4	FH v	FH 30	F v	F 30	F 60	FH 60
5	F v	FH v	F 60	FH 30	FH 60	F 30
6	F 60	F v	FH 60	FH v	F 30	FH 30

T a b e l l e 4
(Versuchsreihe 2b)

Tier	L o k a l i s a t i o n					
Nr.	1	2	3	4	5	6
1	F v	FH 40	FH 20	F 40	F 20	FH v
2	F 20	FH v	FH 40	FH 20	F 40	F v
3	F 40	F v	FH v	FH 40	FH 20	F 20
4	FH 20	F 20	F v	FH v	FH 40	F 40
5	FH 40	F 40	F 20	F v	FH v	FH 20
6	FH v	FH 20	F 40	F 20	F v	FH 40

T a b e l l e 5
(Versuchsreihe 3a)

Tier	L o k a l i s a t i o n					
Nr.	1	2	3	4	5	6
1	FH 30	F 60	F v	FH 60	FH v	F 30
2	FH 60	F v	FH 30	FH v	F 30	F 60
3	FH v	FH 30	FH 60	F 30	F 60	F v
4	F 30	FH 60	FH v	F 60	F v	FH 30
5	F 60	FH v	F 30	F v	FH 30	FH 60
6	F v	F 30	F 60	FH 30	FH 60	FH v

T a b e l l e 6
(Versuchsreihe 3b)

Tier	L o k a l i s a t i o n					
Nr.	1	2	3	4	5	6
1	FH 20	F 40	FH 40	F 20	F v	FH v
2	F v	FH 40	FH 20	F 40	FH v	F 20
3	FH v	FH 20	F v	FH 40	F 20	F 40
4	F 20	F v	FH v	FH 20	F 40	FH 40
5	F 40	FH v	F 20	F v	FH 40	FH 20
6	FH 40	F 20	F 40	FH v	FH 20	F v

T a b e l l e 7
(Versuchsreihe 4a)

Tier	L o k a l i s a t i o n					
Nr.	1	2	3	4	5	6
1	FH v	F 60	FH 60	F 30	F v	FH 30
2	FH 30	FH 60	F v	F 60	FH v	F 30
3	F 30	F v	FH v	FH 60	FH 30	F 60
4	F 60	FH v	FH 30	F v	F 30	FH 60
5	FH 60	FH 30	F 30	FH v	F 60	F v
6	F v	F 30	F 60	FH 30	FH 60	FH v

T a b e l l e 8
(Versuchsreihe 4b)

Tier Nr.	L	o	k	a	l	i	s	a	t	i	o	n
	1	2	3	4	5	6						
1	FH 10	F 10	F v	FH 30	F 30	FH v						
2	F 10	F v	F 30	FH v	FH 30	FH 10						
3	F v	F 30	FH 30	FH 10	FH v	F 10						
4	F 30	FH 30	FH v	F 10	FH 10	F v						
5	FH 30	FH v	FH 10	F v	F 10	F 30						
6	FH v	FH 10	F 10	F 30	F v	FH 30						

Tabelle 9
(Versuchsreihe 5a)

Tier Nr.	L	o	k	a	l	i	s	a	t	i	o	n
	1	2	3	4	5	6						
1	FH 20	FH v	F 20	F v	F 40	FH 40						
2	F 20	F 40	FH 40	FH v	FH 20	F v						
3	FH 40	FH 20	F v	F 40	F 20	FH v						
4	F v	F 20	FH v	FH 20	FH 40	F 40						
5	FH v	FH 40	F 40	F 20	F v	FH 20						
6	F 40	F v	FH 20	FH 40	FH v	F 20						

Tabelle 10
(Versuchsreihe 5b)

Tier Nr.	L	o	k	a	l	i	s	a	t	i	o	n
	1	2	3	4	5	6						
1	F 60	FH 60	FH 80	F 80	F v	FH v						
2	FH 60	FH 80	FH v	F 60	F 80	F v						
3	FH 80	FH v	F v	FH 60	F 60	F 80						
4	FH v	F v	F 80	FH 80	FH 60	F 60						
5	F v	F 80	F 60	FH v	FH 80	FH 60						
6	F 80	F 60	FH 60	F v	FH v	FH 80						

Tabelle 11
(Versuchsreihe 5c)

Tier Nr.	L	o	k	a	l	i	s	a	t	i	o	n
	1	2	3	4	5	6						
1	FH 60	F v	F 10	FH 10	F 60	FH v						
2	F 60	FH 10	F v	FH v	F 10	FH 60						
3	F 10	FH v	FH 10	FH 60	F v	F 60						
4	F v	FH 60	FH v	F 60	FH 10	F 10						
5	FH 10	F 60	FH 60	F 10	FH v	F v						
6	FH v	F 10	F 60	F v	FH 60	FH 10						

T a b e l l e 12
(Versuchsreihe 6a)

Tier Nr.	L	o	k	a	l	i	s	a	t	i	o	n
	1	2	3	4	5	6						
1	FH 20	FH v	F 80	F 20	FH 80	F v						
2	F 20	FH 20	F v	F 80	FH v	FH 80						
3	F 80	F 20	FH 80	F v	FH 20	FH v						
4	F v	F 80	FH v	FH 80	F 20	FH 20						
5	FH 80	F v	FH 20	FH v	F 80	F 20						
6	FH v	FH 80	F 20	FH 20	F v	F 80						

T a b e l l e 13
(Versuchsreihe 6b)

Tier Nr.	L	o	k	a	l	i	s	a	t	i	o	n
	1	2	3	4	5	6						
1	F v	FH v	FH 30	FH 40	F 40	F 30						
2	F 30	F 40	FH v	F v	Fh 40	FH 30						
3	FH 30	FH 40	F 40	F 30	F v	FH v						
4	FH v	F v	FH 40	FH 30	F 30	F 40						
5	F 40	F 30	F v	FH v	FH 30	FH 40						
6	FH 40	FH 30	F 30	F 40	FH v	F v						

T a b e l l e 14
(Versuchsreihe 6c)

Tabellen 15 - 28: Bei den Versuchen ermittelte Einzelwerte
(Quaddelgröße in mm^2).

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F_v mm^2	FH_v mm^2	F_{20} mm^2	FH_{20} mm^2	F_{40} mm^2	FH_{40} mm^2
1	175	140	258	118	198	113	208
2	205	155	253	141	195	131	199
3	195	129	230	118	193	109	188
4	175	137	228	129	189	119	176
5	195	140	259	132	209	132	195
6	170	128	230	115	189	108	179

T a b e l l e 15

(Versuchsreihe 1a, Liquemin 0,02 mg, 20' und 40')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F_v mm^2	FH_v mm^2	F_{30} mm^2	FH_{30} mm^2	F_{60} mm^2	FH_{60} mm^2
1	175	129	252	130	232	109	192
2	195	140	251	129	235	105	207
3	205	125	241	125	229	102	210
4	175	138	238	119	225	109	194
5	205	128	249	119	231	110	205
6	190	131	249	129	235	105	215

T a b e l l e 16

(Versuchsreihe 1b, Liquemin 0,02 mg, 30' und 60')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F _v mm ²	FH _v mm ²	F ₂₀ mm ²	FH ₂₀ mm ²	F ₄₀ mm ²	FH ₄₀ mm ²
1	165	139	258	129	225	130	233
2	185	135	242	135	245	133	248
3	185	135	258	120	239	135	241
4	185	132	241	125	233	130	235
5	190	140	234	127	229	123	234
6	195	126	238	122	237	109	220

T a b e l l e 17

(Versuchsreihe 2a, Liquemin 0,01 mg, 20' und 40')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F _v mm ²	FH _v mm ²	F ₃₀ mm ²	FH ₃₀ mm ²	F ₆₀ mm ²	FH ₆₀ mm ²
1	165	137	250	124	232	127	235
2	175	130	248	125	229	119	233
3	205	156	263	133	232	135	238
4	165	140	245	120	230	130	225
5	205	134	249	119	226	119	229
6	185	140	255	110	228	117	228

T a b e l l e 18

(Versuchsreihe 2b, Liquemin 0,01 mg, 30' und 60')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F_v <u>mm</u> ²	FH_v <u>mm</u> ²	F_{20} <u>mm</u> ²	FH_{20} <u>mm</u> ²	F_{40} <u>mm</u> ²	FH_{40} <u>mm</u> ²
1	185	133	241	118	200	109	185
2	200	146	235	138	189	126	180
3	180	138	229	123	200	122	196
4	175	159	231	138	208	125	193
5	180	135	230	129	218	117	209
6	165	156	225	146	205	129	201

T a b e l l e 19

(Versuchsreihe 3a, Thrombocid 0,02 mg, 20' und 40')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F_v <u>mm</u> ²	FH_v <u>mm</u> ²	F_{30} <u>mm</u> ²	FH_{30} <u>mm</u> ²	F_{60} <u>mm</u> ²	FH_{60} <u>mm</u> ²
1	195	136	243	107	177	113	212
2	160	139	237	104	185	120	208
3	205	142	243	99	164	120	216
4	185	134	234	117	180	128	212
5	205	135	228	118	167	120	181
6	195	138	229	113	171	123	210

T a b e l l e 20

(Versuchsreihe 3b, Thrombocid 0,02 mg, 30' und 60')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F _v mm ²	FH _v mm ²	F ₂₀ mm ²	FH ₂₀ mm ²	F ₄₀ mm ²	FH ₄₀ mm ²
1	175	130	223	118	211	110	188
2	185	149	221	129	209	126	205
3	185	129	216	118	214	108	191
4	185	129	219	125	195	127	189
5	160	125	215	123	205	119	199
6	175	120	227	119	218	114	185

T a b e l l e 21

(Versuchsreihe 4a, Thrombocid 0,01 mg, 20' und 40')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F _v mm ²	FH _v mm ²	F ₃₀ mm ²	FH ₃₀ mm ²	F ₆₀ mm ²	FH ₆₀ mm ²
1	165	155	246	135	187	140	205
2	185	147	229	119	205	122	209
3	165	135	234	128	196	133	202
4	180	139	232	135	210	114	202
5	165	140	241	119	208	118	209
6	175	145	227	121	193	127	205

T a b e l l e 22

(Versuchsreihe 4b, Thrombocid 0,01 mg, 30' und 60')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F _v mm ²	FH _v mm ²	F ₁₀ mm ²	FH ₁₀ mm ²	F ₃₀ mm ²	FH ₃₀ mm ²
1	175	144	259	127	194	125	190
2	185	145	233	130	198	125	187
3	170	138	239	130	196	119	180
4	190	137	237	128	196	117	179
5	165	135	238	123	204	117	193
6	175	134	239	120	197	114	189

T a b e l l e 23
(Versuchsreihe 5a, Eleparon 0,02 mg, 10' und 30')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F _v mm ²	FH _v mm ²	F ₂₀ mm ²	FH ₂₀ mm ²	F ₄₀ mm ²	FH ₄₀ mm ²
1	195	133	248	107	191	103	183
2	195	145	258	106	204	103	159
3	185	142	250	120	188	112	174
4	210	141	235	121	201	108	161
5	175	132	239	118	194	107	182
6	190	137	244	110	190	107	183

T a b e l l e 24
(Versuchsreihe 5b, Eleparon 0,02 mg, 20' und 40')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F _v mm ²	FH _v mm ²	F ₆₀ mm ²	FH ₆₀ mm ²	F ₈₀ mm ²	FH ₈₀ mm ²
1	165	128	235	117	190	127	198
2	165	140	260	110	201	114	230
3	175	144	240	115	202	120	243
4	195	134	229	103	160	118	185
5	185	148	241	132	197	145	218
6	185	148	245	123	208	130	212

T a b e l l e 25

(Versuchsreihe 5c, Eleparon 0,02 mg, 60' und 80')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F _v mm ²	FH _v mm ²	F ₁₀ mm ²	FH ₁₀ mm ²	F ₆₀ mm ²	FH ₆₀ mm ²
1	180	120	228	130	263	145	244
2	180	137	259	150	266	137	228
3	165	135	225	152	249	128	230
4	205	139	238	149	240	131	259
5	165	142	261	150	252	132	235
6	160	130	235	154	268	146	225

T a b e l l e 26

(Versuchsreihe 6a, Eleparon 0,01 mg, 10' und 60')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F _v mm ²	FH _v mm ²	F ₂₀ mm ²	FH ₂₀ mm ²	F ₈₀ mm ²	FH ₈₀ mm ²
1	185	150	265	148	269	152	263
2	175	138	264	143	233	135	240
3	195	152	254	155	267	142	259
4	185	159	249	142	260	155	250
5	185	140	238	121	267	134	253
6	180	127	264	145	260	123	246

T a b e l l e 27

(Versuchsreihe 6b, Eleparon 0,01 mg, 20' und 80')

Tier Nr.	Tier- gew. in g	F _v mm ²	FH _v mm ²	F ₃₀ mm ²	FH ₃₀ mm ²	F ₄₀ mm ²	FH ₄₀ mm ²
1	185	135	250	125	229	120	228
2	175	161	249	148	244	160	255
3	170	128	248	119	245	137	244
4	205	129	248	131	228	118	244
5	195	139	252	121	264	144	265
6	195	120	247	143	255	120	238

T a b e l l e 28

(Versuchsreihe 6c, Eleparon 0,01 mg, 30' und 40')

Tabellen 29 -42: Statistische Daten (Varianzanalysen, Mittelwerte, Irrtumswahrscheinlichkeiten)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	2.425	485	8,08	0,1%
Zwischen Lokalisationen	5	112	22	-	
Zwischen Verfahren	5	72.183	14.437	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	61.009	61.009	100,00	0,1%
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Farbst)	1	1.035	1.035	17,25	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	140	140	2,33	-
Zw.Kontr.-u.V.-Zeiten (Hyase)	1	9.933	9.933	100,00	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	65	65	1,08	-
Rest-Varianz	20	1.199	60		
Gesamt-Varianz	35	75.919	2.169		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _v	138	96			
FH _v	243	229			
F _{20'}	125	103	-13		0,1%
FH _{20'}	195	56	-48	41,2%	0,1%
F _{40'}	119	114	-19		0,1%
FH _{40'}	191	149	-52	45,2%	0,1%

T a b e l l e 29

(Versuchsreihe 1a, Liquemin 0,02 mg, 20' und 40')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	P
Zwischen Tieren	5	251	50	1,66	-
Zwischen Lokalisationen	5	142	28	-	
Zwischen Verfahren	5	108.808	21.762	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	101.124	101.124	100,00	0,1%
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Farbst)	1	1.013	1.013	33,76	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	1.027	1.027	34,23	0,1%
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Hyase)	1	3.403	3.403	100,00	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	2.241	2.241	74,70	0,1%
Rest-Varianz	20	609	30		
Gesamt-Varianz	35	109.810	3.137		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _v	132	35			
FH _v	247	15			
F _{30'}	125	26	- 7		5%
FH _{30'}	231	15	- 16	12,3%	0,1%
F _{60'}	106	10	- 16		0,1%
FH _{60'}	204	82	- 43	34,1%	0,1%

T a b e l l e 30
(Versuchsreihe 1b, Liquemin 0,02 mg, 30' und 60')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	P
Zwischen Tieren	5	813	163	4,41	1%
Zwischen Lokalisationen	5	411	82	2,21	-
Zwischen Verfahren	5	107.934	21.587	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	107.256	107.256	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Farbst)	1	256	256	6,92	5%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	0	0	-	
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Hyase)	1	420	420	11,35	1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	1	1	-	
Rest-Varianz	20	733	37		
Gesamt-Varianz	35	109.891	3.140		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _V	134	26			
FH _V	245	106			
F _{20'}	126	29	- 8		5%
FH _{20'}	235	52	- 10	9,1%	1%
F _{40'}	127	91	- 7		5%
FH _{40'}	235	87	- 10	8,6%	1%

T a b e l l e 31
(Versuchsreihe 2a, Liquemin 0,01 mg, 20' und 40')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	779	156	7,09	0,1%
Zwischen Lokalisationen	5	83	17	-	
Zwischen Verfahren	5	109.616	21.923	100,00	0,1%
Zw. Quaddel-Typen	1	106.711	106.711	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Farbst)	1	1.167	1.067	48.50	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	21	21	-	
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Hyase)	1	1.806	1.806	82,09	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	10	10	-	
Rest-Varianz	20	444	22		
Gesamt-Varianz	35	110.922	3.169		

	$\bar{x}(v)$	$s^2(v)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(k)$	Hemmung	Sicherung
F _v	139	80			
FH _v	251	41			
F _{30'}	122	58	- 17		0,1%
FH _{30'}	229	5	- 22	18,0%	0,1%
F _{60'}	124	53	- 15		0,1%
FH _{60'}	231	23	- 20	16,5%	0,1%

T a b e l l e 32

(Versuchsreihe 2b, Liquemin 0,01 mg, 30' und 60')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	714	143	1,72	-
Zwischen Lokalisationen	5	222	44	-	-
Zwischen Verfahren	5	59.790	11.958	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	53.515	53.515	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Farbst)	1	1.272	1.272	15,32	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	341	341	4,11	-
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Hyase)	1	4.400	4.400	53,01	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	261	261	3,14	-
Rest-Varianz	20	1.669	83		
Gesamt-Varianz	35	62.395	1.783		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F_v	144	122			
FH_v	232	31			
$F_{20'}$	132	111	- 12		0,1%
$FH_{20'}$	203	93	- 29	28,7%	0,1%
$F_{40'}$	121	53	- 23		0,1%
$FH_{40'}$	194	111	- 38	38,2%	0,1%

T a b e l l e 33
(Versuchsreihe 3a, Thrombocid 0,02 mg, 20' und 40')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	P
Zwischen Tieren	5	294	59	-	
Zwischen Lokalisationen	5	339	68	1,15	-
Zwischen Verfahrenen	5	75.500	15.100	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	61.752	61.752	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Farbst)	1	1.965	1.965	33,31	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	363	363	6,15	5%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Hyase)	1	8.251	8.251	100,00	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	3.169	3.169	53,71	0,1%
Rest-Varianz	20	1.172	59		
Gesamt-Varianz	35	77.305	2.209		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _V	137	9			
FH _V	235	43			
F _{30'}	110	57	- 27		0,1%
FH _{30'}	174	65	- 61	54,5%	0,1%
F _{60'}	121	24	- 16		1%
FH _{60'}	206	163	- 29	25,8%	0,1%

T a b e l l e 34
(Versuchsreihe 3b, Thrombocid 0,02 mg, 30' und 60')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	465	93	1,94	-
Zwischen Lokalisationen	5	189	38	-	-
Zwischen Verfahren	5	66.285	13.257	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	63.504	63.504	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Farbst)	1	455	455	9,48	1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	65	65	1,35	-
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Hyase)	1	1.508	1.508	31,42	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	752	752	15,67	0,1%
Rest-Varianz	20	967	48		
Gesamt-Varianz	35	67.906	1.940		

	$\bar{x}(v)$	$s^2(v)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(k)$	Hemmung	Sicherung
F _v	130	97			
FH _v	220	20			
F _{20'}	122	20	- 8		1%
FH _{20'}	209	64	- 11	11,9%	1%
F _{40'}	117	65	- 13		1%
FH _{40'}	193	58	- 27	28,2%	0,1%

T a b e l l e 35

(Versuchsreihe 4a, Thrombocid 0,01 mg, 20' und 40')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	242	48	-	
Zwischen Lokalisationen	5	173	35	-	
Zwischen Verfahren	5	65.350	13.070	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	59.862	59.862	100,00	0,1%
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Farbst)	1	1.237	1.237	18,46	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	1	1	-	
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Hyase)	1	4.160	4.160	62,09	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	91	91	1,36	-
Rest-Varianz	20	1.334	67		
Gesamt-Varianz	35	67.099	1.917		

	$\bar{x}(v)$	$s^2(v)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _v	143	50			
FH _v	235	53			
F _{30'}	126	58	- 17		0,1%
FH _{30'}	200	84	- 35	34,0%	0,1%
F _{60'}	126	94	- 17		0,1%
FH _{60'}	205	10	- 30	28,6%	0,1%

T a b e l l e 36

(Versuchsreihe 4b, Thrombocid 0,01 mg, 30' und 60')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	252	50	1,79	-
Zwischen Lokalisationen	5	109	22	-	
Zwischen Verfahren	5	68.699	13.740	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	57.600	57.600	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Farbst)	1	1.013	1.013	36,18	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	140	140	5,00	5%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Hyase)	1	9.571	9.571	100,00	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	374	374	13,36	1%
Rest-Varianz	20	570	28		
Gesamt-Varianz	35	69.630	1.989		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _v	139	21			
FH _v	241	84			
F _{10'}	126	16	- 13		0,1%
FH _{10'}	197	12	- 44	38,5%	0,1%
F _{30'}	119	21	- 20		0,1%
FH _{30'}	186	32	- 55	48,4%	0,1%

T a b e l l e 37

(Versuchsreihe 5a, Eleparon 0,02 mg, 10' und 30')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	46	9	-	
Zwischen Lokalisationen	5	457	91	1,68	-
Zwischen Verfahren	5	84.968	16.994	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	65.195	65.195	100,00	0,1%
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Farbst)	1	3.173	3.173	58,76	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	147	147	2,72	-
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Hyase)	1	15.129	15.129	100,00	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	1.323	1.323	24,50	0,1%
Rest-Varianz	20	1.083	54		
Gesamt-Varianz	35	86.554	2.473		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _V	138	27			
FH _V	245	67			
F _{20'}	113	46	- 25		0,1%
FH _{20'}	195	41	- 50	40,4%	0,1%
F _{40'}	107	11	- 31		0,1%
FH _{40'}	173	124	- 72	57,1%	0,1%

T a b e l l e 38
(Versuchsreihe 5b, Eleparon 0,02 mg, 20' und 40')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	P
Zwischen Tieren	5	2.848	570	6,55	1%
Zwischen Lokalisationen	5	1.112	222	2,55	-
Zwischen Verfahren	5	79.787	15.957	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	70.933	70.933	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Farbst)	1	1.469	1.469	16,88	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	243	243	2,79	-
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Hyase)	1	5.776	5.776	66,39	0,1%
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	1.365	1.365	15,69	0,1%
Rest-Varianz	20	1.747	87		
Gesamt-Varianz	35	85.494	2.443		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _V	140	65			
FH _V	242	111			
F _{60'}	117	102	- 23		0,1%
FH _{60'}	193	297	- 49	42,6%	0,1%
F _{80'}	126	124	- 14		1%
FH _{80'}	214	443	- 28	23,9%	0,1%

T a b e l l e 39
(Versuchsreihe 5c, Eleparon 0,02 mg, 60' und 80')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	442	88	-	
Zwischen Lokalisationen	5	95	19	-	
Zwischen Verfahren	5	101.962	20.392	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	100,067	100,067	100,00	0,1%
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Farbst)	1	267	267	1,74	-
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	363	363	2,37	-
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Hyase)	1	125	125	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	1.141	1.141	7,46	5%
Rest-Varianz	20	3.061	153		
Gesamt-Varianz	35	105.560	3.016		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F_V	134	62			
FH_V	241	239			
$F_{10'}$	147	77	+ 13		-
$FH_{10'}$	256	123	+ 15	- 15,1%	-
$F_{60'}$	136	57	+ 2		-
$FH_{60'}$	237	162	- 4	4,1%	-

T a b e l l e 40
(Versuchsreihe 6a, Eleparon 0,01 mg, 10' und 60')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	849	170	1,41	-
Zwischen Lokalisationen	5	633	127	1,06	-
Zwischen Verfahren	5	115.821	23.164	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	115.600	115.600	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Farbst)	1	38	38	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	14	14	-	
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Hyase)	1	0	0		
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	169	169	1,41	-
Rest-Varianz	20	2.407	120		
Gesamt-Varianz	35	119.710	3.420		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _v	144	133			
FH _v	256	117			
F _{20'}	142	131	- 2		-
FH _{20'}	259	181	+ 3	- 3,2%	-
F _{80'}	140	145	- 4		-
FH _{80'}	252	71	- 4	3,4%	-

T a b e l l e 41

(Versuchsreihe 6b, Eleparon 0,01 mg, 20' und 80')

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	2.194	439	3,60	5%
Zwischen Lokalisationen	5	354	71	-	
Zwischen Verfahren	5	115.160	23.032	100,00	0,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	115.034	115.034	100,00	0,1%
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Farbst)	1	40	40	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	12	12	-	
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Hyase)	1	67	67	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyase)	1	7	7	-	
Rest-Varianz	20	2.451	122		
Gesamt-Varianz	35	120.159	3.433		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Hemmung	Sicherung
F _v	135	200			
FH _v	249	3			
F _{30'}	131	143	- 4		-
FH _{30'}	244	201	- 5	4,2%	-
F _{40'}	133	286	- 2		-
FH _{40'}	246	167	- 3	2,9%	-

T a b e l l e 42
(Versuchsreihe 6c, Eleparon 0,01 mg, 30' und 40')

Zusammenfassung

Im Tierversuch wurde die Spreading-hemmende Wirkung von intravenös appliziertem Heparin (Liquemin) und von Heparinoiden (Thrombocid, Eleparon) geprüft und die geringste Dosis ausgetestet, die noch eine deutliche, statistisch nachweisbare, Hemmung des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings bewirkt.

Diese Dosis lag für alle drei geprüften Substanzen unter 0,02 mg/100 g Versuchstier.

Vergleichsmöglichkeiten unserer Untersuchungsergebnisse im Hinblick auf den resorbierten Anteil oral bzw. cutan applizierten Heparins oder eines Heparinoids wurden diskutiert.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
- 2) Mathies, H.: Arzneim.-Forsch. 8, 233 (1958)
- 3) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Arzneim.-Forsch. 9, 576 (1959)
- 4) Mathies, H., Biechele, I. u. Hartmann, M.: Ärztl. Forsch.
14, I/160 (1960)
- 5) Mathies, H., Batisweiler, T., Kreiselmaier, G. u. Will, E.:
Arzneim.-Forsch. 10, 484 (1960)
- 6) Glück, A.: Diss. München 1959
- 7) Hardegg, W. u. Maass, W.: Klin. Wschr. 33, 811 (1955)
- 8) Maxein, H.: Diss. München 1959
- 9) Meder, H.: Diss. München 1961
- 10) Ziware, P.: Diss. München (in Vorbereitung)
- 11) Gelius, K.: Diss. München (in Vorbereitung)
- 12) Burk, O.: Diss. München (in Vorbereitung)

Herrn Prof. Dr. W. Seitz danke ich für die Überlassung des
Themas dieser Arbeit.

Herrn Dr. H. Mathies schulde ich Dank für seinen Rat bei der
Durchführung und Auswertung der Versuche.

Für die statistische Bearbeitung der Versuchsergebnisse danke
ich Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich.

Den Firmen Deutsche Hoffmann-La Roche A.G., Grenzach/Baden,
Dr. Benend K.G., München und Luitpold-Werk, München, sei an
dieser Stelle für die Überlassung der Versuchspräparate ge-
dankt.

Lebenslauf

Ich, Franz Terhardt, wurde am 20.11.1933 in Gladbeck/
Westf. als Sohn des Kaufmanns August Terhardt und seiner
Ehefrau Helene, geb. Lenz, geboren.

Im Jahre 1954 legte ich am Gymnasium meiner Heimatstadt
die Reifeprüfung ab. Im Sommersemester 1954 begann ich an
der Universität Bonn das Studium der Rechtswissenschaften.
Im Wintersemester 1955/56 wechselte ich zum Studium der
Medizin über. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im Früh-
jahr 1958 in Bonn. Im Sommersemester 1958 studierte ich an
der Universität Innsbruck, in den beiden folgenden Semestern
an der Freien Universität Berlin. Vom Wintersemester 1959/60
an bis zum Wintersemester 1960/61 einschließlich war ich an
der Universität München immatrikuliert. Am 7.6.1961 schloss
ich dort die ärztliche Prüfung ab.

